IMMUNOASSAYS AND SERVICES
BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY
LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

Інструкція із застосування

ДГТ ІФА

Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@novamedline.com, www.novamedline.com

REF **AA E-1900**

2°C 8°C Σ 96 IVD CE

ІФА дигідротестостерон (ДГТ).

Укр.

1. ПРИЗНАЧЕННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ

Для кількісного визначення дигідротестостерону (ДГТ) у сироватці крові людини за допомогою ІФА (імуноферментний аналіз).

Цей набір призначений лише для професійного використання та лише для лабораторного використання. Тільки для діагностики in vitro. Призначений для використання вручну, але може бути адаптований до відкритих автоматизованих аналізаторів. Користувач несе відповідальність за перевірку ефективності цього набору за допомогою будь-яких автоматизованих аналізаторів.

2. ОБМЕЖЕННЯ, ПОВ'ЯЗАНІ З ПРИЗНАЧЕННЯМ ТА ВИКОРИСТАННЯМ

1. Цей тест не призначений для скринінгу.
2. Цей тест не призначений для домашнього тестування або самотестування.
3. Набір відкалібрований для визначення ДГТ у сироватці крові людини. Набір не відкалібрований для визначення ДГТ в інших зразках людського або тваринного походження.
4. Результати, отримані за допомогою цього набору, ніколи не повинні використовуватися як єдина основа для клінічного діагнозу та терапевтичних рішень.
5. Незважаючи на те, що звичайні впливаючі речовини були оцінені за допомогою цього тесту, інші речовини, які не були оцінені, такі як ліки та поява гетерофільних антитіл у осіб, які регулярно контактують з тваринами або продуктами тваринного походження, можуть спричиняти вплив.

3. ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Дигідротестостерон (ДГТ) є найактивнішим природним андрогеном у людини, який відіграє головну роль у розвитку первинних і вторинних статевих ознак і потенційно бере участь у безлічі інших фізіологічних процесів. Основна частина виробництва андрогенів відбувається в основному в клітинах Лейдіга яєчок. Андрогени циркулюють у крові у зв'язках з білками, особливо з глобуліном, що зв'язує статеві гормони (SHBG), в результаті периферичного перетворення тестостерону, тоді як у жінок більша частина ДГТ походить від андростендіону.

Деякі з основних клінічних показань вимірювання ДГТ у сироватці крові - це дослідження затримки статевого дозрівання у чоловіків і оцінка наявності активної тканини яєчка.[1].

4. ПРИНЦИП ТЕСТУ

ДГТ ІФА є конкурентоспроможним імуноаналізом. Конкуренція відбувається між ДГТ, присутнім у стандартах, контролях, зразках зразків, і міченим ферментом антигеном (кон'югатом HRP) за обмежену кількість місць зв'язування антитіл проти ДГТ в лунках мікропланшетів. Після етапу промивання, який видаляє незв'язані матеріали, додається субстрат ТМБ (субстрат ферменту), який реагує з HRP з утворенням продукту синього кольору, який обернено пропорційний кількості наявного ДГТ. Після інкубації ферментативна реакція припиняється додаванням зупиняючого розчину, перетворюючи колір із синього на жовтий. Оптичну густину вимірюють на рідері мікропланшетів при 450 нм. Набір стандартів використовується для побудови стандартної кривої, з якої можна безпосередньо зчитати кількість ДГТ у зразках і контролях.

5. ПРОЦЕДУРНІ ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Цей набір призначений для використання навченим лабораторним персоналом (тільки для професійного використання). Тільки для лабораторного використання in vitro.
2. Практикуйте належну лабораторну практику під час роботи з наборами реагентів і зразків. Це включає:
   - Не пипетуйте ротом.
   - Не паліть, не пийте та не їжте в місцях, де працюють зі зразками або реагентами з набору.
   - Одягайте захисний одяг та одноразові рукавички.
   - Ретельно вимийте руки після виконання тесту.
   - Уникати контакту з очима; користуватися захисними окулярами; у разі потрапляння в очі негайно промийте їх водою та зверніться до лікаря.
3. Користувачі повинні мати повне розуміння цього протоколу для успішного використання цього набору. Надійна робота буде досягнута лише за умови суворого та ретельного дотримання наданих інструкцій.
4. Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
5. Якщо набір реагентів має видимі пошкодження, не використовуйте тестовий набір.
6. Не використовуйте компоненти набору з різних партій набору під час тесту та не використовуйте будь-які компоненти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
7. Усі реагенти та зразки з набору необхідно довести до кімнатної температури та обережно, але ретельно перемішати перед використанням. Уникайте повторного заморожування та розморожування зразків.
8. Якщо для розведення або відновлення зазначено використання води, використовуйте дейонізовану або дистильовану воду.
9. Одразу після використання кожен окремий компонент набору необхідно повернути до рекомендованої температури зберігання, зазначеної на етикетці.
10. Стандартна крива повинна бути встановлена для кожного циклу.
11. Усім клієнтам рекомендується готувати власні контрольні матеріали або пули сироваток, які слід включати в кожен цикл на високому та низькому рівні для оцінки надійності результатів.

12. Контролі (включені в набір) повинні бути включені в кожен цикл, і їх результати повинні бути в межах діапазонів, зазначених у сертифікаті контролю якості; невдалий результат контролю може свідчити про неправильну техніку процедури або піпетування, неповне промивання або неправильне зберігання.
13. Під час дозування субстрату та стоп-розчинів не використовуйте піпетки, у яких ці рідини будуть контактувати з будь-якими металевими частинами.
14. Субстрат ТМБ чутливий до світла і повинен залишатися безбарвним за умови належного зберігання. На нестабільність або забруднення може вказувати поява синього кольору, у цьому випадку його не слід використовувати.
15. Не використовуйте сильно гемолізовану, сильно ліпемічну, жовтяничну або неправильно збережену сироватку.
16. Зразки або контролі, що містять азид або тимеросал, несумісні з цим набором, вони можуть призвести до хибних результатів.
17. Значення зразків, що перевищують діапазон вимірювання набору, можуть повідомлятися як > 2500 пг/мл. Якщо потрібне подальше розведення та повторне тестування, для розведення зразків сироватки можна використовувати лише зразки сироватки з відомою низькою концентрацією ДГТ (< 50 пг/мл). Використання будь-якого іншого реагенту може призвести до помилкових результатів.
18. Уникайте мікробного забруднення реагентів.
19. Щоб запобігти забрудненню реагентів, використовуйте новий одноразовий наконечник піпетки для дозування кожного реагенту, зразка, стандарту та контролю.
20. Щоб запобігти забрудненню реагентів, не виливайте реагенти назад у оригінальні контейнери.
21. Реагенти набору слід розглядати як небезпечні відходи та утилізувати відповідно до місцевих та/або національних правил.
22. Потенційно біологічно небезпечні витратні матеріали, що використовуються з набором (наприклад, наконечники для піпеток, пляшки або контейнери, що містять людські матеріали), повинні поводитися відповідно до практик біобезпеки, щоб мінімізувати ризик зараження, і утилізуватися згідно з місцевими та/або національними правилами щодо біологічно небезпечних відходів.
23. Цей набір містить 1 М сірчану кислоту в компоненті зупиняючого розчину. Не поєднуйте кислоту з відходами, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію.
24. Під час роботи з біологічно небезпечними або біологічно забрудненими розчинами настійно рекомендується використовувати захисні окуляри та одноразовий пластик.
25. Потрібне належне калібрування обладнання, що використовується для тесту, наприклад піпеток і пристрою для зчитування поглинання мікропланшетів.
26. Якщо для процедури аналізу потрібен шейкер для мікропланшетів, тип і швидкість шейкера вказано в розділі РЕАГЕНТИ ТА ОБЛАДНАННЯ, ПОТРІБНІ, АЛЕ НЕ НАСТАНІ. Як тип, так і швидкість використовуваного шейкера можуть впливати на ОГ та результати тестування. Якщо використовується інший тип шейкера та/або швидкість, користувач несе відповідальність за перевірку продуктивності .
27. Не використовуйте лунки мікропланшетів повторно, вони призначені лише для ОДНОРАЗОВОГО ВИКОРИСТАННЯ.
28. Щоб уникнути конденсації в лунках мікропланшета у вологому середовищі, не відкривайте пакет з мікропланшетом, поки він не досягне кімнатної температури.
29. Під час зчитування мікропланшету наявність бульбашок у лунках впливатиме на оптичну густину (ОГ). Обережно видаліть будь-які бульбашки перед виконанням кроку читання.
30. Про будь-який серйозний інцидент, який стався з пристроєм, необхідно повідомити виробника та компетентний орган Європейської держави-члена, у якій проживає користувач та/або пацієнт.

6. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ

6.1 БІОЛОГІЧНА НЕБЕЗПЕКА

Реагенти слід розглядати як потенційну біологічну небезпеку та поводитися з ними з такими ж запобіжними заходами, як і зі зразками крові. Усі людські зразки слід розглядати як потенційну біологічну небезпеку та поводитися з ними так, ніби вони здатні передавати інфекції та відповідно до належної лабораторної практики.

Стандарти та контролі, що постачаються разом із набором, містять оброблену сироватку/плазму крові людини, яка була перевірена схваленими методами та виявила негативний результат на наявність HBsAg та антитіл до ВГС, ВІЛ 1/2 та ВІЛ NAT. Однак жоден метод тестування не може запропонувати повну впевненість у відсутності будь-яких життєздатних патогенів. Тому ці компоненти слід розглядати як потенційну біологічну небезпеку та поводитися з ними з такими ж запобіжними заходами, як і з будь-яким зразком крові, дотримуючись належної лабораторної практики.

6.2 ХІМІЧНА НЕБЕЗПЕКА

Уникайте прямого контакту з будь-яким із реагентів набору. Особливо уникайте контакту з субстратом ТМБ (містить тетраметилбензидин) і зупиняючим розчином (містить сірчану кислоту). У разі контакту з будь-яким із цих реагентів промийте великою кількістю води та зверніться до паспорта безпеки для отримання додаткової інформації.

7. ЗБІР, ЗБЕРІГАННЯ ТА ПОПЕРЕДНЯ ОБРОБКА ЗРАЗКІВ

7.1 Збір та зберігання зразків

Приблизно 0,1 мл сироватки потрібно для повторного визначення. Зберіть 4-5 мл венозної крові в пробірку з відповідним маркуванням і дайте їй згорнутися. Відцентрифугуйте при кімнатній температурі та обережно перенесіть сироватку в нову пробірку або контейнер для зберігання. Зразки сироватки можна зберігати при кімнатній температурі до семи днів, при 2–8 °C протягом чотирнадцяти днів або заморожувати при температурі -20 °C або нижче протягом 1 місяця.

Розглядайте всі людські зразки як можливі біологічно небезпечні матеріали та вживайте відповідних запобіжних заходів під час поводження.

7.2 Попередня обробка зразка

Попередня обробка зразка не потрібна.

8. ПОТРЕБНІ, АЛЕ НЕ НАДАНІ РЕАГЕНТИ ТА ОБЛАДНАННЯ

1. Калібрована одноканальна піпетка для дозування 50 мкл.
2. Калібровані багатоканальні піпетки для дозування 50 мкл, 100 мкл і 150 мкл.
3. Відкалібровані багатоканальні піпетки для дозування 350 мкл (якщо мити вручну).
4. Автоматична мийка мікропланшетів (рекомендовано).
5. Одноразові наконечники для піпеток.
6. Дистильована або дейонізована вода.
7. Калібрований рідер мікропланшетів з абсорбцією з фільтром 450 нм і верхньою межею ОГ 3,0 або більше.

9. РЕАГЕНТИ НАДАНІ

1. AA E-1931 96 **Мікропланшет**– Готовий до використання

Зміст: Один покритий поліклональним антитілом анти-ДГТ 96-лунковий (12x8) мікропланшет у пакеті, що закривається з осушувачем.

Зберігання: 2 – 8 °C

Стабільність: Нерозкритий: стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Після відкриття: Стабільний протягом чотирьох тижнів.

2. AA E-1940 CONJUGATE **Кон'югат HRP**– Готовий до використання

Зміст: Одна пляшка, що містить кон’югат ДГТ-пероксидази хрону (HRP) на основі білка буфер з безртутним консервантом.

обсяг: 15 мл/флакон

Зберігання: 2 – 8 °C

Стабільність: Нерозкритий: стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Після відкриття: Стабільний протягом чотирьох тижнів.

3. Стандарти і контролі – готові до використання

Нижче наведено приблизні концентрації, точні концентрації див. на етикетках флаконів.

Кат. №.	Символ	Стандарт	Концентрація	Обсяг/флакон
AA E-1901	STANDARD A	**Стандарт A**	0 пг/мл	1.0 мл
AA E-1902	STANDARD B	**Стандарт B**	25 пг/мл	1.0 мл
AA E-1903	STANDARD C	**Стандарт C**	100 пг/мл	1.0 мл
AA E-1904	STANDARD D	**Стандарт D**	250 пг/мл	1.0 мл
AA E-1905	STANDARD E	**Стандарт E**	500 пг/мл	1.0 мл
AA E-1906	STANDARD F	**Стандарт F**	1000 пг/мл	1.0 мл
AA E-1907	STANDARD G	**Стандарт G**	2500 пг/мл	1.0 мл
AA E-1951	CONTROL 1	**Контроль 1**	Зверніться до КЯ сертифікату для цільових значень та прийнятного діапазону.	1.0 мл
AA E-1952	CONTROL 2	**Контроль 2**		1.0 мл

Зміст: Сім пляшок зі стандартним вмістом ДГТ у визначених концентраціях. Матриця на основі людської сироватки з безртутним консервантом. Отримано шляхом додавання в матрицю певної кількості ДГТ.

Дві пляшки контролю, що містять різні концентрації ДГТ. Матриця на основі людської сироватки з безртутним консервантом. Отримано шляхом додавання в матрицю певної кількості ДГТ.

Зберігання: 2 – 8 °C

Стабільність: Нерозкритий: стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Після відкриття: стабільний протягом чотирьох тижнів.

4. AA E-0055 Зміст: SUBSTRATE **Субстрат ТМБ**– Готовий до використання

Один флакон, що містить тетраметилбензидин і перекис водню в буфері, що не містить ДМФ або ДМСО.

обсяг: 16 мл/флак

Зберігання: 2 – 8 °C

Стабільність: Нерозкритий: стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Після відкриття: стабільний протягом чотирьох тижнів.

5. AA E-1980 Зміст: STOP-SOLN **Стоп Розчин** – Готовий до використання.

Одна пляшка, що містить 1 М сірчаної кислоти.

Обсяг: 8 мл/флакон

Зберігання: 2 – 8 °C

Стабільність: Нерозкритий: стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Після відкриття: стабільний протягом чотирьох тижнів.

Ідентифікація небезпеки:

H290 Може викликати корозію металів.
H314 Викликає серйозні опіки шкіри та пошкодження очей.

6. AA E-0030 Зміст: WASH-CONC 10x **Концентрат промивного буфера**– Концентрований; Вимагає підготовки

Вміст: Один флакон, що містить буфер з неіонним миючим засобом і консервантом, що не містить ртуті.

Зберігання: 50 мл/флакон

Стабільність: 2 – 8 °C

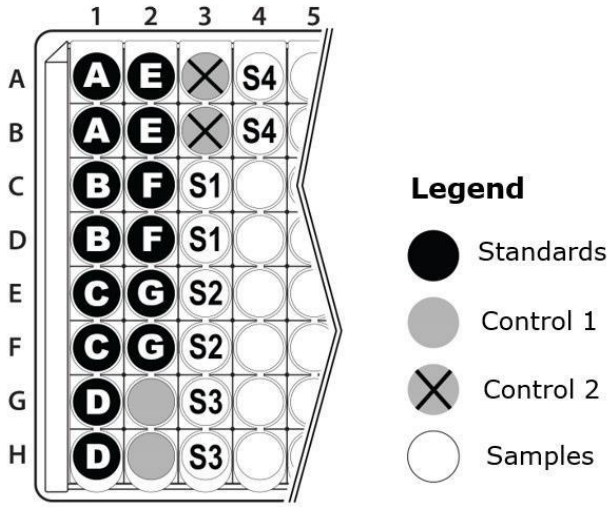
Нерозкритий: стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці. Після відкриття: стабільний протягом чотирьох тижнів.

Приготування робочого розчину промивного буфера: Після приготування: робочий розчин промивного буфера стабільний протягом 2 тижнів після приготування за умови дотримання належної лабораторної практики. Щоб запобігти росту мікробів, приготуйте робочий розчин промивного буфера в чистій ємності та зберігайте в холодильнику (2–8 °C), коли він не використовується.

X10 Перед використанням розвести 1:10

Перед використанням розведіть 1:10 у дистильованій або дейонізованій воді. Якщо планується використовувати весь мікропланшет, розведіть 50 мл концентрату промивного буфера в 450 мл дистильованої або дейонізованої води.

10. РЕКОМЕНДОВАНА СХЕМА АНАЛІЗУ



11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Попередня обробка зразка: немає

Перед використанням усі компоненти набору, контролі та зразки зразків повинні досягти кімнатної температури. Стандарти, контролі та зразки зразків слід аналізувати в двох примірниках. Після початку процедури всі етапи повинні бути завершені без перерви.

1.	Після того, як усі компоненти набору досягнуть кімнатної температури, обережно перемішайте шляхом інверсії.
2.	**Приготуйте** Робочий розчин промивного буфера (Див. розділ 9. Реагенти, що входять до набору, 7. Промивний буфер *Концентрат*).
3.	**План** лунок мікропланшета, які будуть використовуватися для стандартів, контролів і зразків. Дивіться розділ 10. Рекомендована схема аналізу. Вийміть стріпи з рамки мікропланшета, які не використовуватимуться, і помістіть їх у пакет із осушувачем. Знову закрийте пакет із невикористаними стріпами та поверніть його в холодильник.
4.	**Набрати 50 мкл** кожного зразка стандарту, контролю та зразка у призначені лунки.
5.	**Піпетуйте 100 мкл** кон'югату HRP у кожну лунку (використання багатоканальної піпетки рекомендований).
6.	Обережно постукуйте по рамці мікропланшета протягом 10 секунд, щоб перемішати вміст лунок та інкубувати мікропланшет при кімнатній температурі (без струшування) протягом 90 хвилин.
7.	**Промити** лунки мікропланшета за допомогою автоматичного промивача мікропланшету (бажано) або вручну, як зазначено нижче. Автоматичний: Використовуючи автоматичну промивну машину для мікропланшетів, виконайте 3-циклове промивання, використовуючи 350 мкл/лунку робочого розчину промивного буфера (3 x 350 мкл). Один цикл складається з аспірації всіх лунок, а потім заповнення кожної лунки 350 мкл робочого розчину промивного буфера. Після останнього циклу промивання аспіруйте всі лунки, а потім постукайте мікропланшетом, щільно притисніть до абсорбуючого паперу, щоб видалити залишки рідини. Вручну: Для ручного промивання виконайте 3 цикли промивання, використовуючи 350 мкл/лунку робочого розчину промивного буфера (3 x 350 мкл). Один цикл складається з аспірації всіх лунок шляхом швидкого спорожнення вмісту лунок над контейнером для відходів, а потім піпетуванням 350 мкл робочого розчину промивного буфера в кожну лунку за допомогою багатоканальної піпетки. Після останнього циклу промивання аспіруйте всі лунки, швидко випорожнивши вміст над контейнером для відходів, а потім щільно постукайте мікропланшетом об абсорбуючий папір, щоб видалити будь-яку залишкову рідину.
8.	**Піпетка 150 мкл** субстрату ТМБ в кожну лунку (рекомендовано використання багатоканальної піпетки).
9.	**Інкубувати** мікропланшет при кімнатній температурі (без струшування) протягом 30 хвилин.
10.	**Піпеткою 50 мкл** зупиняючого розчину в кожну лунку (рекомендовано використання багатоканальної піпетки) у тому ж порядку та швидкості, що використовувалися для додавання субстрату ТМБ. Обережно постукайте по рамці мікропланшета, щоб перемішати вміст лунок.
11.	**Виміряти** оптичну густину (поглинання) в лунках мікропланшета за допомогою пристрою для зчитування мікропланшетів встановити на 450 нм протягом 20 хвилин після додавання зупиняючого розчину.

12. РОЗРАХУНКИ

1. Обчисліть середню оптичну густину для кожного зразка стандарту, контролю та зразка.
2. Використовуйте 4- або 5-параметричну криву, підібрану за допомогою програмного забезпечення для імунологічного аналізу, щоб створити стандартну криву.
3. Програмне забезпечення для імунологічного аналізу обчислить концентрації контролів і зразків зразків за допомогою середніх значень оптичної густини та стандартної кривої.
4. Якщо зразок показує більше 2500 пг/мл і потребує розведення та повторного тестування, тоді розведіть зразком сироватки з відомою низькою концентрацією ДГТ (< 50 пг/мл) не більше ніж 1:10. Отриманий результат необхідно помножити на коефіцієнт розведення.

13. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

При оцінці достовірності результатів тесту слід оцінювати такі критерії:
1. Середня оптична густина за стандартом А відповідає прийнятному діапазону, зазначеному в сертифікаті якості.
2. Стандарт із найвищою концентрацією відповідає прийнятному діапазону % зв'язування, як зазначено в сертифікаті контролю якості. % зв'язування = (ОГ стандарту/ОГ стандарту А) x 100.
3. Значення, отримані для контролів набору, знаходяться в допустимих діапазонах, як зазначено в сертифікаті контролю якості.
4. Результати будь-якого зовнішнього контролю, який використовувався, відповідають прийнятним діапазонам.

14. ТИПОВІ ДАНІ

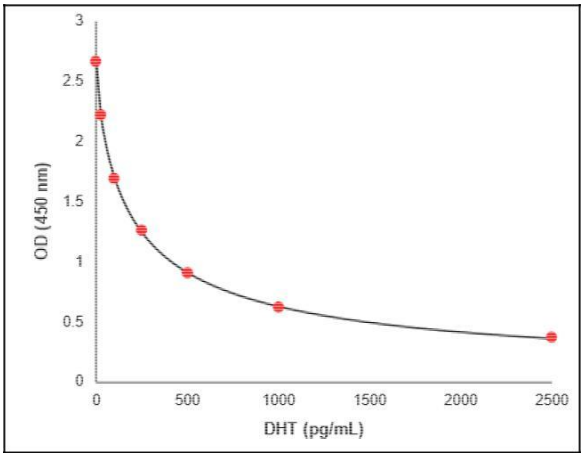
14.1 ТИПОВІ ТАБЛИЧНІ ДАНІ

Лише зразкові дані. Не використовуйте для розрахунку результатів.

Стандарт	Середня ОГ (450 нм)	% зв'язування	Значення (пг/мл)
A	2,664	100	0
B	2,225	84	25
C	1,695	64	100
D	1,261	47	250
E	0,911	34	500
F	0,622	23	1000
G	0,372	14	2500
Невідомий	1,077	–	353

14.2 ТИПОВА СТАНДАРТНА КРИВА

Лише вибіркова крива. Не використовуйте для розрахунку результатів.



15. ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1 ЧУТЛИВІСТЬ

Аналітичне дослідження чутливості було виконано відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2. Шістдесят повторів матриці та зразків низької концентрації були проведені в незалежних тестах з трьома партіями набору. Межа бланк (LoB) була визначена як 9,4 пг/мл, межа виявлення (LoD) була визначена як 17,0 пг/мл, а межа кількісного визначення (LoQ) була визначена як 17,0 пг/мл.

15.2 СПЕЦИФІЧНІСТЬ (ПЕРЕХРЕСНА РЕАКТИВНІСТЬ)

Наступні сполуки були протестовані на перехресну реакцію з ДГТ, що перехресно реагує на 100%.

З'єднання	% Перехресна реактивність
5α-ДГТ	100
17-гідроксипрогестерон	< 0,01
17β-естрадіол	< 0,01
Альдостерон	< 0,01
Андростендіон	0,6
Кортикостерон	< 0,01
Кортизол	< 0,01
Даназол	< 0,01
DHEAS	< 0,01
Естріол	< 0,01
Естрон	< 0,01
Етістерон	0,03
Прегненолон	< 0,01
Прогестерон	<0,01
Тестостерон	8.1

15.3 ВПЛИВ

Дослідження інтерференції було проведено відповідно до рекомендацій CLSI EP07-A2.
Не спостерігалося значного впливу на концентрації до 10 г/л гемоглобіну, 10 мг/дл білірубіну (кон'югованого та некон'югованого), 1500 мг/дл тригліцеридів, 2,4 мкг/мл біотину, 1,2 мкг/мл HAMAS і 2531 МО/мл ревматоїдного фактора.
Вплив спостерігався як для кон'югованого, так і для некон'югованого білірубіну на рівнях 20 мг/дл або вище.

15.4 ТОЧНІСТЬ

Дослідження прецизійності було виконано відповідно до рекомендацій CLSI EP05-A2.

Повторюваність
Експериментальний протокол використовував схему вкладених компонентів дисперсії з 7 зразками сироватки, 10 днями тестування, двома партіями та двома вченими на день. Кожен вчений проводив два тести на день і два повторних вимірювання за один прогін (схема 10 x 2 x 2 x 2) для кожного зразка. Результати були проаналізовані за допомогою двостороннього вкладеного дисперсійного аналізу та зведені в таблицю нижче.

Зразок	Середній (пг/мл)	В межах прогону		Між прогонами		Всього	
		СВ (пг/мл)	CV%	СВ (пг/мл)	CV%	СВ (пг/мл)	CV%
1	31.4	13.7	43.7	3.3	10.5	14.1	44,9*
2	144.2	19.3	13.4	8.5	5.9	21.0	14.6
3	817,5	51.7	6.3	21.1	2.6	55.8	6.8
4	429.5	34.5	8.0	10.8	2.5	36.8	8.6
5	586.2	38.8	6.6	15.5	2.6	41.8	7.1
6	1561	90,0	5.8	24.1	1.5	94.5	6.1
7	1287	71.1	5.5	18.5	1.4	73.4	5.7

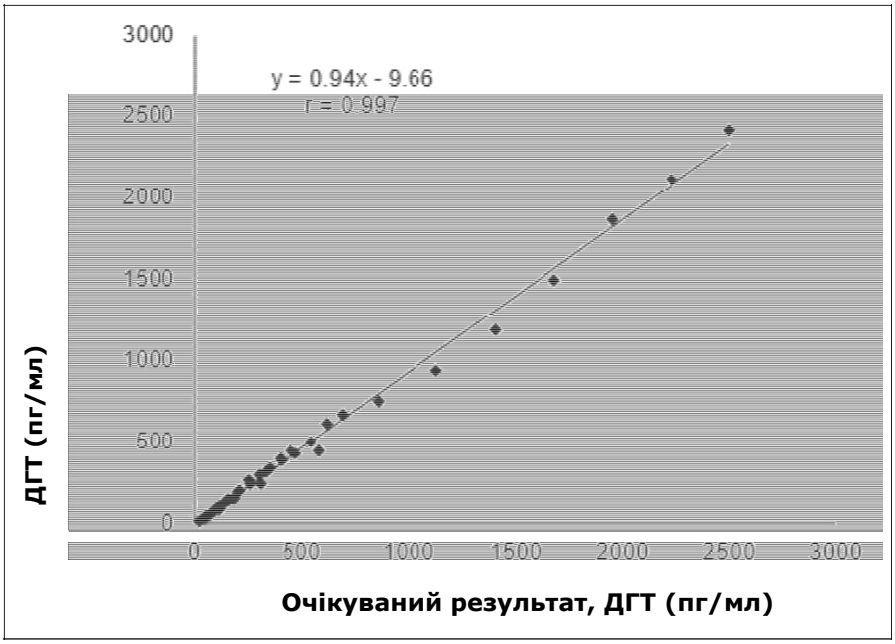
* Очікується, що зразки, близькі до межі кількісного визначення, матимуть вищу похибку. Допустима загальна похибка для зразків менше 145 пг/мл становить ± 30 пг/мл.[6]

Відтворюваність
Дослідження відтворюваності оцінювало точність пристрою за моделлю експериментального дизайну 3 x 5 x 5 (3 місця x п'ять днів тестування x п'ять повторень на день) у лабораторіях, розташованих в Італії, США та Канаді. Результати були проаналізовані за допомогою двостороннього вкладеного дисперсійного аналізу та зведені в таблицю нижче.

Зразок	Середнє (пг/мл)	Повторюваність		У межах розташування		Відтворюваність	
		СВ (пг/мл)	CV%	СВ (пг/мл)	CV%	СВ (пг/мл)	CV%
QCL	129.4	5.5	4.3	6.5	5.1	7.5	5.8
QCH	411.8	14.5	3.5	18.4	4.5	19.8	4.8
1	65.4	4.4	6.7	5.7	8.8	10.7	16.4
2	189,7	8.5	4.5	17.7	9.3	33.5	17.7
3	228.2	8.8	3.9	15.7	6.9	30.6	13.4
4	390.4	12.1	3.1	31.1	8.0	38,0	9.7
5	655,8	18.7	2.8	38.3	5.8	63.8	9.7
6	883.2	26.4	3.0	55.4	6.3	128.1	14.5

15.5 ЛІНІЙНІСТЬ

Дослідження лінійності проводили відповідно до рекомендацій CLSI EP06-Ed2 з використанням чотирьох зразків сироватки крові людини, що охоплювали діапазон аналізу (між 226 і 2500 пг/мл).
Зразки розводили у зразках сироватки з низькою концентрацією ДГТ (менше 50 пг/мл) при кількох еквідистантних рівнях концентрації до десяти відсотків (1:10), тестували у двох примірниках, а результати порівнювали з прогнозованою концентрацією. Статистичний аналіз показує, що аналіз є достатньо лінійним до розведення 1:10.



15.6 ВІДНОВЛЕННЯ

Зразки з добавками готували шляхом додавання певної кількості ДГТ (присутнього у зразках сироватки з високою концентрацією ДГТ) до чотирьох зразків сироватки. Результати (у пг/мл) наведено в таблиці нижче:

Зразок	Концентрація Результат (пг/мл)	Концентрація збагачення Зразки (пг/мл)	Очікувана Концентрація від 9:1 в/в (пг/мл)	Відновлення %
1	91.3	–	–	–
	177.3	800	162.2	109.3
	230.2	1472	229.4	100.3
	313.8	2672	349.4	89,8
2	191.6	–	–	–
	261,0	800	252.5	103.4
	306.2	1472	319.7	95.8
	408,0	2672	439,7	92.8
3	379,5	–	–	–
	433.2	800	421.6	102.7
	499,5	1472	488,8	102.2
	573.3	2672	608,8	94.2
4	360.2	–	–	–
	383.2	800	404.2	94.8
	461,8	1472	471.4	98,0
	510.8	2672	591.4	86.4

15.7 ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Набір ДГТ ІФА (y) порівнювали з методом рідинної хроматографії та тандемної мас-спектрометрії ДГТ (x). Порівняння 90 зразків сироватки дало наступні результати лінійної регресії з використанням відповідності Пасінга-Баблока: y = 0,78x + 73,8, r = 0,88.

16. РЕФЕРЕНТНІ ДІАПАЗОНИ

Референтні діапазони (95%) були оцінені з використанням зразків, отриманих від дорослих особин різних рас. Кожна лабораторія повинна встановити власний діапазон контрольних значень. НВ= Не виявляється; нижче, ніж межа виявлення LoD.

Група	Н	Медіана (пг/мл)	95% референтний Діапазон (пг/мл)
Дорослі чоловіки (20 – 89 років)	304	380	143 – 842
Дорослі жінки (18 – 50 років)	183	91	НВ – 596
Дорослі жінки (51 – 83 роки)	135	53	НВ – 431

Референтні діапазони оцінювали за допомогою педіатричних зразків, як показано нижче. Через обмежений розмір вибірки не вдалося встановити еталонний діапазон у 95%; надається загальний асортимент. Кожна лабораторія повинна встановити власний діапазон контрольних значень.

Стать	Вік (роки)	Н	Загальний діапазон (пг/мл)
Чоловік	1 – 9	40	НВ – 85,7
	10 – 14	26	11.1 – 875.6
	15 – 18	14	70,3 – 1260,9
Жінка	2 – 9	40	НВ – 88,9
	10 – 14	21	22,5 – 280,6
	15 – 18	19	62,6 – 760,3

17. ЛІТЕРАТУРА

1. Marchetti P, Barth, JH (2013) Клінічна біохімія дигідротестостерону. Annals of Clinical Biochemistry, 50:95–107.
2. Hong H. та ін. (2015) Афінність зв'язування глобуліну, що зв'язує статеві гормони людини, 125 структурно різноманітних хімічних речовин і порівняння їх зв'язування з рецептором андрогену, рецептором естрогену та α-фетопротеїном.
   Наука про токсикологію, 143:333–348.
3. Arabnezhad MR та ін. (2020), Антиандрогенний ефект 6-форміліндоло[3,2-b]карбазолу (FICZ) у клітинах LNCaP опосередковується перехресним зв'язком арилового вуглеводню з андрогенними рецепторами, Steroids, 153:108508.
4. Літман Х.Й. (2006) Рівні андрогенів у сироватці чорношкірих, латиноамериканців і білих чоловіків. Журнал клінічної ендокринології та метаболізму, 91:4326–4334.
5. Bhattacharyya D та ін. (2018). Вимірювання дигідротестостерону (ДГТ) у сироватці крові для дослідницьких цілей за допомогою дериватизації та PX-MC/MC. Thermo-Fisher Scientific. Презентація в MSACL - Щорічний конгрес з мас-спектрометрії 2018.
6. Greaves RF та ін. (2017). Гармонізація аналізу сироваткового дигідротестостерону: створення програми зовнішнього контролю якості. Clin Chem Lab Med. 55:522-529.
7. Каллум Фрейзер, Біологічна мінливість: від принципів до практики, AACC Press, 2013.
8. Сарторіус, Г., Спасевська, С., Ідан, А., Тернер, Л., Форбс, Е., Замойська, А., Аллан, Каліфорнія, Лі, Л. П., Конвей, А. Дж., Маклахлан, Р. І. і Хандельсман, Ді-Джей (2012), Концентрації тестостерону, дигідротестостерону та естрадіолу в сироватці крові у літніх чоловіків, які повідомляють про дуже добре здоров'я: дослідження здорових чоловіків. Clin Endocrinol, 77:
   755–763. doi:10.1111/j.1365-2265.2012. 04432.x
9. Е. Дж. Вікінгс;, Е. Nieschlag (1976) Стабільність тестостерону та андростендіону в крові та плазмі зразки. Clin Chimica Acta; 71:439-443.
10. Горітяла, С., Ян, С., Монтано, М.М., Сюй, Ю. (2018). Одночасне визначення дигідротестостерону та його метаболітів у мишачих сироватках за допомогою LC-MS/MS з хімічною дериватизацією. Журнал хроматографії. B, Аналітичні технології в біомедицині та науках про життя, 1090, 22–35. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.05.008
11. Ван дер Веен та ін. (2019) Розробка та валідація методу LC-MS/MS для встановлення референтних інтервалів і біологічної варіації для п'яти плазмових стероїдних гормонів. Клінічна біохім. 68:15–23.

18. ІСТОРІЯ ЗМІН

Попередня Версія:	2.0	**Нова версія:**	3.0
Зміни:	Новий формат інструкції з використання з пронумерованими заголовками. **1. ПРИЗНАЧЕННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ** Додаток: цей набір призначений лише для професійного використання та лише для лабораторного використання. Тільки для діагностики in vitro. Призначений для використання вручну, але може бути адаптований до відкритих автоматизованих аналізаторів. Користувач несе відповідальність за перевірку ефективності цього набору за допомогою будь-яких автоматизованих аналізаторів. **2. ОБМЕЖЕННЯ, ПОВ'ЯЗАНІ З ПРИЗНАЧЕННЯМ ТА ВИКОРИСТАННЯМ** 1 і 2 додано. **5. ПРОЦЕДУРНІ ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ** Додано додаткові застереження та попередження. До цього розділу додано деякі попередні обмеження. **8. ПОТРЕБНІ, АЛЕ НЕ НАДАНІ РЕАГЕНТИ ТА ОБЛАДНАННЯ** Додавання автоматичного промивача мікропланшетів. **11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ** Назви компонентів переглянуто відповідно до визначень символів. **13. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ** Додано новий розділ. **15.4 ТОЧНІСТЬ** **Відтворюваність** Додано новий розділ/дані. **18. ІСТОРІЯ ЗМІН** Додано новий розділ. Додавання розділів про скарги на продукт, гарантію та обмеження відповідальності.		

Скарги на продукт

У разі скарг на продукт користувач повинен надати письмово розповсюджувачу або виробнику опис скарги та надати супровідні дані та/або інформацію.

Гарантія

Виробник гарантує, що продукт не має дефектів і працюватиме відповідно до специфікацій продукту, якщо продукт використовується до закінчення терміну придатності, відповідно до цільового призначення та використання, а також відповідно до інструкцій із використання, що надаються разом із продуктом. Будь-які відхилення від цільового призначення та використання, інструкцій щодо використання, модифікація компонентів набору або використання після закінчення терміну придатності призведе до втрати гарантії.

Обмеження відповідальності

Відповідальність виробника за будь-яких обставин, пов'язаних із правопорушеннями (включаючи недбалість) або за загальним правом, а також за будь-які збитки чи збитки, включаючи, але не обмежуючись, втрачений прибуток і втрату продажів, прямі, непрямі, наслідкові, випадкові чи спеціальні, обмежується ціною придбання відповідного(их) продукту(ів).

Умовні позначення

Температура зберігання	Виробник	Містить достатньо для <N> випробувань
Дата закінчення терміну придатності	LOT Код партії	IVD Тільки для ін вітро діагностики в лабораторних умовах!
Звертайтесь до інструкції по експлуатації	**CONT** зміст	CE Маркування
Обережно	**REF** Каталожний номер	